

「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」
平成 22 年度採択研究代表者

H26 年度
実績報告書

高井 義美

神戸大学大学院医学研究科
特命教授

海馬神経回路形成における細胞接着分子と関連分子の機能と作用機構

§ 1. 研究実施体制

(1) 高井グループ

① 研究代表者: 高井 義美 (神戸大学大学院医学研究科、特命教授)

② 研究項目

- ・神経回路の形成と機能発現におけるネクチン、アフアディンおよびその関連分子による神経細胞の標的細胞認識や、シナプスの形態形成と機能制御、およびシナプス可塑性の機構について、細胞生物学や電気生理学的手法およびライブイメージング技術などを用いて研究を行う。
- ・海馬における神経回路の形成と機能発現の分子機構を、細胞間接着分子とその関連分子の面から個体レベルで明らかにするために必要となるノックアウトマウスなどの作成と維持・管理を行う。

(2) 溝口グループ

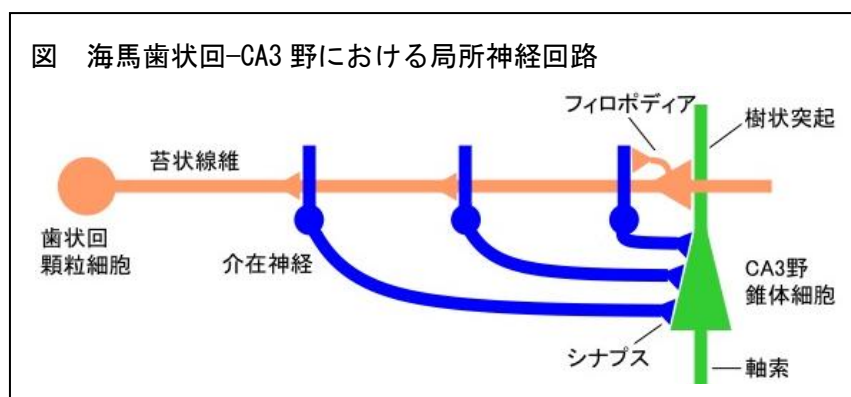
① 主たる共同研究者: 溝口 明 (三重大学大学院医学系研究科、教授)

② 研究項目

- ・電子顕微鏡による海馬苔状線維終末の微細形態の解析
- ・海馬における神経回路の形成とシナプス可塑性の機構の形態学的解析

§ 2. 研究実施の概要

脳の海馬は学習と記憶の要となる領域であり、歯状回顆粒細胞の苔状線維はCA3野錐体細胞の樹状突起と巨大シナプスを形成している(図)。しかし、この回路やシナプスの形成



機構およびその可塑性の機構は不明である。研究代表者らによって見いだされた細胞接着分子ネクチンとその結合分子アファディンは、苔状線維巨大シナプスではプンクタドヘレンシアジャンクション(PAJ)と呼ばれる接着部位にカドヘリンと共に局在し、神経回路とシナプスの形成に参与していることが明らかになりつつある。そこで本研究では、苔状線維シナプスの形成とその可塑性の機構における、ネクチンとアファディンの機能を解明する。平成26年度には次のような成果が得られた。

1. 大脳皮質と海馬のアファディンが特異的に欠損したマウスでは、皮質下帯状異所性灰白質(二重皮質)が形成され、ラディアルグリア細胞の突起の形態とこの突起依存性の神経細胞の移動が異常であった。これらの結果から、アファディンは発生期の脳皮質における神経細胞の移動を制御していることが明らかになった。さらに、アファディンは海馬苔状線維の伸長やCA3野錐体細胞の移動にも関与していた。
2. アファディンを欠損したマウスの海馬苔状線維巨大シナプスの走査電子顕微鏡画像の三次元再構築法による解析では、PAJはほぼ消失し、前シナプスのアクティブゾーンと後シナプスのシナプス後肥厚部も断片化して小型化していた。また、放出可能プールのシナプス小胞の数も減少していた。培養海馬切片における苔状線維単位シナプス伝達の電気生理学的解析では、興奮性シナプス後電流の振幅が減少し、ペアパルス比率が増加していた。これらの結果から、アファディンは苔状線維巨大シナプスの構造形成とシナプス前性とシナプス後性の機能を制御していることが明らかになった。
3. 海馬CA3野における電気生理学的シナプス可塑性とシナプス終末の形態変化との関係は充分には明らかにされていない。パッチクランプした顆粒細胞に、ある条件下で高頻度活動電位刺激を加えてシナプス終末の形態を観察したところ、大部分のシナプス終末において、その形態が刺激後60分以内に複雑にくびれた構造に分割された。種々の阻害剤を用いた解析によって、このシナプス終末の形態の変化の誘導にはグルタミン酸受容体の活性化とこの活性化によって引き起こされる後シナプススパイン内のカルシウム上昇およびこのカルシウム上昇による逆行性シグナル分子であるNOとアラキドン酸の産生が必要であった。一方、シナプス終末の形態と単位シナプス伝達との同時記録では、シナプス終末の形態の複雑さと興奮性シナプス後電流の振幅との間に有意な相関が認められた。これらの結果から、海馬苔状線維シナプスには、シナプス活動に依存した

形態学的可塑性の機構が備わっていることが明らかになると共に、この形態学的可塑性が電気生理学的可塑性に関与していることが示唆された。

原著論文

1. Kobayashi R, Kurita S, Miyata M, Maruo T, Mandai K, Rikitake, Y, Takai Y. (2014) s-Afadin binds more preferentially to the cell adhesion molecules nectins than l-afadin. *Genes Cells* 19: 853-863. (DOI: 10.1111/gtc.12185)
2. Fujiwara Y, Goda N, Tamashiro T, Narita H, Satomura K, Tenno T, Nakagawa A, Oda M, Suzuki M, Sakisaka T, Takai Y, Hiroaki H. (2015) Crystal structure of afadin PDZ domain-nectin-3 complex shows the structural plasticity of the ligand-binding site. *Protein Sci* 24: 376-385. (DOI: 10.1002/pro.2628)
3. Inoue T, Fujiwara T, Rikitake Y, Maruo T, Mandai K, Kimura K, Kayahara T, Wang S, Ioth Y, Sai K, Mori M, Mori K, Mizoguchi A, Takai Y. Nectin-1 spots as a novel adhesion apparatus that tethers mitral cell lateral dendrites in a dendritic meshwork structure of the developing mouse olfactory bulb. *J Comp Neurol* 523:1824-1839. (DOI: 10.1002/cne.23762)